

EFECTO DE LA FERTILIZACIÓN N-P-K SOBRE LA CALIDAD DE PLANTA Y LA RESPUESTA EN CAMPO DE PLANTAS DE VIVERO DE *EUCALYPTUS GLOBULUS* LABILL.

Manuel Fernández Martínez¹, Raúl Tapias Martín¹, Patricia Alesso Oviedo¹, Federico Ruiz Fernández² y Gustavo López Scollo²

¹ Universidad de Huelva. Escuela Politécnica Superior. Campus de La Rábida. 21819-PALOS DE LA FRONTERA (Huelva, España). Correo electrónico: manuel.fernandez@dcaf.uhu.es

² Grupo Empresarial ENCE, S.A. Carretera Madrid-Huelva, km 630. Aptdo. 223. 21080-HUELVA (España)

Resumen

Eucalyptus globulus Labill., especie arbórea ampliamente utilizada en plantaciones comerciales forestales, precisa de un mayor conocimiento del efecto de la fertilización en vivero sobre la respuesta post-transplante. Para ello, estaquillas enraizadas de siete meses de edad fueron sometidas a distintos tratamientos de fertilización N-P-K durante la fase de endurecimiento, en una cámara de cultivo climatizada, reduciendo gradualmente la temperatura y el fotoperíodo. Al final del ensayo se evaluaron parámetros morfo-fisiológicos indicadores de la calidad y se estableció un ensayo de campo durante un año. Las concentraciones foliares de N, P y K, algunas de ellas indicativas de sobrecarga nutricional, no se diferenciaron entre tratamientos, pero sí lo hicieron las de las raíces. Tampoco se obtuvieron diferencias en cuanto a crecimiento y resistencia al frío. Tan sólo se acusó significativamente el efecto positivo de K sobre la capacidad de regeneración de raíces. La respuesta de las plantas en campo, en términos de supervivencia y crecimiento, no mostró diferencias significativas entre tratamientos transcurrido un año desde la plantación, quizás debido al papel predominante que pudiera tener N sobre los otros dos nutrientes y/o a las buenas condiciones de crecimiento de la parcela de campo.

Palabras clave: *Nutrición mineral, Crecimiento, Regeneración de raíces, Estaquillas enraizadas*

INTRODUCCIÓN

Eucalyptus globulus Labill. es una de las especies leñosas exóticas más utilizadas en plantaciones comerciales forestales. Sus cultivos ocupan una superficie de 15 Mha (BEADLE & SANDS, 2004) en varios continentes. Sin embargo, aún no se conoce con profundidad cómo influye la fertilización durante la fase de vivero en su posterior

respuesta en campo, llegando a proponerse la inducción tanto de sobrecarga de nutrientes como de deficiencia. En un estudio previo en vivero se ha observado que, considerando los macronutrientes N, P y K aplicados a dosis distintas durante la fase de endurecimiento, tan sólo el primero de ellos influyó significativamente en la concentración de nutrientes en los tejidos y en la calidad de las plantas producidas (FERNÁNDEZ et al.

2007). Entendiendo como calidad, a efectos de este estudio, la potencialidad de las plantas para sobrevivir y crecer tras el trasplante.

El contenido de nutrientes de las plantas puede contribuir, en parte, a la capacidad de supervivencia tras el trasplante, debido a sus efectos sobre el crecimiento, capacidad de regeneración de raíces, distribución de la biomasa, superficie y estructura foliar, tasa fotosintética y/o movilización de nutrientes desde los tejidos más viejos hacia los que están creciendo. Asimismo, su influencia sobre la capacidad de ajuste osmótico puede ayudar a mejorar la tolerancia a situaciones desfavorables originadas por estrés hídrico o frío (COLOMBO et al., 2003).

Por todo ello, con el presente estudio se trató de complementar los trabajos anteriores ampliando el rango de aporte de nutrientes (en especial de P y K) durante la fase de endurecimiento y procurando un mayor control de las variables ambientales de crecimiento. Con ello se pretendía inducir en las plantas valores contrastados de concentraciones de nutrientes que pudieran facilitar la interpretación de los resultados, tanto en parámetros morfo-fisiológicos estimadores de la calidad de las plantas como en la respuesta en campo tras la plantación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal y diseño experimental

Se partió de plantas de una savia de un clon comercial de *Eucalyptus globulus*, procedentes del vivero de ENCE (San Juan del Puerto, Huelva) y producidas a partir de estaquillas enraizadas. El cultivo se hizo en envases SLC (Super-Leach®, 125 cm³, 22 cm de largo, 400

plantas.m⁻²) rellenos con una mezcla 1:1 (v/v) de turba y corteza de pino (Pons®). A los siete meses de edad, se llevaron al laboratorio y se colocaron aleatoriamente en bandejas (24 bandejas de 10 plantas cada una). Seguidamente se mantuvieron en una cámara de cultivo climatizada durante 14 semanas, dos de aclimatación (25/15°C día/noche, 14 h fotoperiodo), y otras 12 de ensayo. En las semanas de ensayo se programó una reducción gradual de la temperatura (1°C.semana⁻¹, de 25 a 14°C de máxima y de 15 a 4°C de mínima) y del fotoperiodo (0,5 h.semana⁻¹, de 14 a 9 h). El flujo fotónico fotosintético en el centro de la cámara de cultivo fue de 400 μmol.m⁻².s⁻¹, reduciéndose a 320 en los bordes. Al final de las 12 semanas las plantas habían soportado 300 h con temperatura igual o inferior a 8°C. En el momento del inicio del ensayo las características de las plantas eran las siguientes: 23,4 ± 0,6 cm de altura (H); 2,70 ± 0,05 mm de diámetro (D); 1,31% N, 0,05% P, 1,01% K, 3,9% azúcares solubles (AS) y 9,4 % almidón (AL) en hojas; 0,51% N, 0,07% P, 0,52% K, 0,6% AS y 7,1% AL en raíces.

Tras el período de aclimatación se asignaron, al azar, tres bandejas por solución nutritiva. Para componer las soluciones nutritivas, se tomó como referencia la n° 1, que contenía 126,0-71,2-89,9 mg.l⁻¹ de N-P-K (N en forma de NO₃⁻). Esta solución nutritiva está dentro del rango más habitual utilizado en los viveros durante la fase de crecimiento de las plantas. A partir de ella se confeccionaron las restantes soluciones nutritivas (Tabla 1). Esto es: **a)** las soluciones n° 1, 2, 3 y 4 constituirían un factorial completo con dos factores fijos (P y K) que tomaron los valores (P1 y P1/20 ; K1 y K1/20); **b)** Las soluciones n° 1, 5, 6 y 7 constituirían un factorial completo donde los dos factores (P y

Códigos de los tratamientos			Soluciones de riego (mg/L)			Tratamiento (n°)
			N	P	K	
N ₁	P ₁	K ₁	126,0	71,2	89,9	1
N ₁	P _{1/20}	K ₁	126,0	3,6	89,9	2
N ₁	P ₁	K _{1/20}	126,0	71,2	4,5	3
N ₁	P _{1/20}	K _{1/20}	126,0	3,6	4,5	4
N ₁	P ₂	K ₁	126,0	142,4	89,9	5
N ₁	P ₁	K ₂	126,0	71,2	179,8	6
N ₁	P ₂	K ₂	126,0	142,4	179,8	7
N ₂	P ₂	K ₂	252,0	142,4	179,8	8

Tabla 1. Tratamientos de fertilización mineral aplicados a las plantas

K) tomaron los valores (P_1 y P_2 ; K_1 y K_2); **c)** Las soluciones nº 7 y 8 constituirían un ensayo de un solo factor (N), aplicado a dos niveles (N_1 y N_2); **d)** Asimismo, las soluciones nº 1, 3 y 6 constituirían a su vez un ensayo de un solo factor (K) aplicado a tres niveles ($K_{1/20}$, K_1 y K_2).

Los restantes macro y micronutrientes se añadieron en cantidades similares a todos los tratamientos para evitar posibles deficiencias. El fertilizante se aplicó una vez por semana a razón de 67 cm³ de solución nutritiva por planta. Entre cada dos fertilizaciones se regaba con agua destilada según necesidad. Antes de cada fertilización se rotaban las bandejas para evitar posibles influencias microambientales, y se regaba con agua destilada hasta su percolación por el fondo para lavar el remanente de solución nutritiva que pudiera quedar en el sustrato.

Mediciones realizadas

Al comienzo del ensayo se seleccionaron aleatoriamente 10 plantas por tratamiento (muestra permanente), a las se midió la altura (H) y el diámetro (D) en cuatro ocasiones durante el ensayo (días 1, 28, 56 y 84). Estas mismas plantas se utilizaron, al final del período en la cámara de cultivo, para las determinaciones de peso seco de hojas (PS_{hj}), raíces (PS_{rz}) y tallos (PS_{tl}). Con estos datos se pudo obtener el peso seco total (PS_{tot}) y la relación de peso seco entre parte aérea y raíz ($PA/R = [PS_{hj} + PS_{tl}] / PS_{rz}$).

Una vez pesadas, las muestras fueron molidas y guardadas en ambiente fresco y seco para la posterior determinación de nutrientes (N, P, K), azúcares solubles (AS) y almidón (AL). Los procedimientos utilizados fueron: análisis elemental para N (EA FLASH 1112 CHNS, CE Instruments Ltd., UK), método colorimétrico del azul de molibdato para P, fotometría de llama para K (Flame photometer 410, Corning Ltd, Essex, UK), extracción hidro-alcohólica y colorimetría con antrona para AS, hidrólisis ácida seguida de colorimetría con antrona para AL.

Al final del ensayo de la cámara de cultivo se determinó la capacidad de regeneración de raíces emergidas desde el cepellón. Para ello se tomaron seis plantas por tratamiento, se cortaron todas las raíces blancas que sobresalían por el exterior del cepellón y, seguidamente, se colocaron en envases forestales de 2,5 l de volumen,

rellenos con perlita humedecida. Los envases se llevaron a la misma cámara de cultivo, que se programó a 23/17°C día/noche, 60/80% de humedad relativa y 14 h de fotoperíodo. Las plantas se regaron según necesidad y se fertilizaron una vez por semana con la solución nutritiva del tratamiento nº 1. Transcurridas tres semanas, se extrajeron las plantas de los envases, se limpió cuidadosamente el sustrato y se tomaron datos de la longitud total de raíces y del peso seco de las raíces nuevas emergidas desde el cepellón.

Asimismo, en los días 1, 28, 56 y 84, se determinó la tolerancia al frío de las plantas. Ésta se midió en hojas bien desarrolladas, del 3er, 4º ó 5º verticilo por debajo del meristemo principal. Se utilizaron cinco plantas, tomando dos hojas por planta y temperatura ensayada. En cada fecha se ensayaron tres temperaturas mínimas, que variaron entre -3 y -7°C dependiendo del la fecha. La metodología del ensayo de frío se detalla en FERNÁNDEZ *et al.* (2007).

Tras el período en la cámara de cultivo, nueve plantas por solución nutritiva se llevaron a la parcela de campo de la Escuela Politécnica Superior de La Rábida (Huelva). Aunque la parcela es llana y homogénea, se dispusieron en tres bloques (3 plantas por bloque y tratamiento) para evitar posibles efectos microambientales, en un marco de 1,0 x 1,0 m². Transcurrido un año desde la plantación se midió la altura y la supervivencia.

Análisis de datos

Los datos fueron evaluados mediante análisis de la varianza (ANOVA de uno o dos factores, según el caso), según el modelo lineal general. Se utilizó el paquete estadístico SPSS® 12.0. Se analizaron por separado los cuatro grupos de tratamientos (**a**), **b**), **c**) y **d**). El efecto de los bloques no resultó significativo en ninguno de los casos, por lo que fue excluidos del modelo: $y_{ij} = \mu + P_i + K_j + PK_{ij} + \varepsilon$ (para **a**) y **b**), o bien $y_k = \mu + N_k + \varepsilon$ (para **c**) y **d**). Las diferencias se consideraron significativas para un nivel de significación $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Durante las doce semanas en la cámara de cultivo, los crecimientos en altura, diámetro y

biomasa, aunque con tendencia a ser mayores para los tratamientos con mayor aporte de nutrientes (N_2 , P_2 y K_2), no se diferenciaron significativamente entre ellos ($p \geq 0,141$). Para el conjunto de tratamientos, las plantas promediaron $31,5 \pm 0,6$ cm de altura, $3,26 \pm 0,05$ mm de diámetro y $4,12 \pm 0,30$ g de peso seco total. Tampoco se diferenciaron en cuanto a PA/R ($7,2 \pm 0,3$). A la sexta semana de ensayo (día 42) las plantas habían conseguido el 70% del incremento total en altura, mientras que el incremento en diámetro supuso el 40%. Por tanto, en la segunda mitad del ensayo el crecimiento en altura se redujo sensiblemente respecto al del diámetro.

Las concentraciones foliares de nutrientes (N_{hj} , P_{hj} y K_{hj}) tampoco se diferenciaron significativamente entre tratamientos, para ninguno de los factores puestos en juego ni para sus interacciones ($p \geq 0,254$). Al final del ensayo en la cámara de cultivo, los valores obtenidos (media \pm ET) fueron los siguientes: $N_{hj} = 2,84 \pm 0,10\%$, $P_{hj} = 0,11 \pm 0,03\%$, $K_{hj} = 1,82 \pm 0,20\%$. Las concentraciones de nitrógeno en raíces no se diferenciaron entre tratamientos para los factores P y K ($p \geq 0,160$, $N_{rz} = 1,40 \pm 0,05\%$), pero sí lo hicieron entre los dos tratamientos ($n^\circ 7$ y 8) diferenciados por el factor N ($N_{rz} = 1,5 \pm 0,01\%$ y $1,8 \pm 0,01\%$ para N_1 y N_2 respectivamente, $p=0,049$). Asimismo, siguiendo con las raíces, los contenidos de P del tratamiento $P_{1/20}$ se diferenciaron significativamente de P_1 ($P_{rz} = 0,05 \pm 0,01\%$ y $0,16 \pm 0,02\%$, respectivamente,

$p=0,021$), pero no se diferenciaron P_1 de P_2 ($P_{rz} = 0,15 \pm 0,03\%$ para P_2). Por último los contenidos de K diferenciaron los tres tratamientos entre sí ($K_{rz} = 0,20 \pm 0,06\%$, $0,78 \pm 0,07\%$ y $1,16 \pm 0,10\%$ respectivamente para $K_{1/20}$, K_1 y K_2 , $p \leq 0,041$). Cabe añadir que las concentraciones de AS y AL, tanto en hojas como en raíces, tampoco se diferenciaron entre tratamientos ($AS_{hj} = 3,9 \pm 0,3\%$, $AS_{rz} = 1,7 \pm 0,3\%$, $AL_{hj} = 5,6 \pm 0,6\%$, $AL_{rz} = 7,0 \pm 0,7\%$).

Las diferencias entre tratamientos para el grado de resistencia al frío no resultaron significativas para ninguno de los factores puestos en juego, ni para sus interacciones. Los valores de temperatura a la cual se produjo el 50% de daños en las hojas, para las cuatro fechas de medición y el conjunto de tratamientos fueron $-3,99 \pm 0,09^\circ\text{C}$ (día 1), $-4,37 \pm 0,10^\circ\text{C}$ (día 28), $-5,57 \pm 0,09^\circ\text{C}$ (día 56) y $-5,74 \pm 0,12^\circ\text{C}$ (día 84). Por tanto, en conjunto, apenas bajaron en 2°C su grado de tolerancia al test de frío.

En cuanto a la capacidad de regeneración de raíces tan sólo resultó significativo el efecto de K ($K_{1/20} = 55 \pm 15$ mg, $K_1 = 107 \pm 25$ mg, $K_2 = 164 \pm 30$ mg, $p \leq 0,042$), obteniéndose mayores valores de peso seco de raíces regeneradas cuanto mayor fue la concentración de K en la raíz (Figura 1).

Con todo lo anterior, no se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos en la respuesta en campo. El valor de supervivencia fue del 100% en todos los tratamientos y el crecimiento anual en altura, aunque con ten-

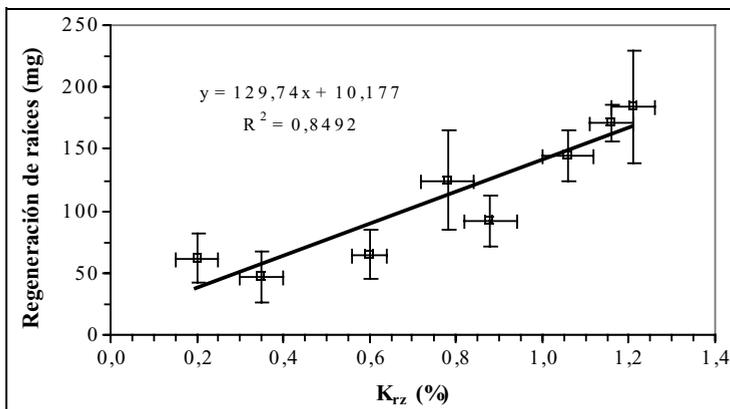


Figura 1. Relación entre la concentración de potasio en raíces (K_{rz}) y la regeneración de raíces nuevas emergidas del cepellón

dencia a ser mayor para los tratamientos con mayor aporte de nutrientes (N_2 , P_2 y K_2), no resultó significativamente distinto entre tratamientos ($p \geq 0,160$), siendo en su conjunto, de 105 ± 12 cm.

DISCUSIÓN

La falta de diferenciación entre tratamientos en cuanto a crecimiento y distribución de biomasa pudiera ser debida al régimen de temperaturas programado en la cámara de cultivo. En la sexta semana la temperatura mínima alcanzó 10°C y, a partir de ahí, siguió bajando hasta 4°C con la consecuente ralentización del crecimiento. Durante las primeras seis semanas prevaleció el crecimiento en altura y, posteriormente, a medida que bajaba la temperatura, prevaleció el diamétrico sobre la altura. Las altas concentraciones de nutrientes en las hojas al final del ensayo, especialmente N y K que rondaron el 3,0 y 2,0% respectivamente, podrían indicar acumulación extra de nutrientes en estos órganos debido a las bajas temperaturas y la ralentización del crecimiento en la segunda mitad del ensayo (FERNÁNDEZ et al., 2007, y literatura citada).

Eucalyptus globulus es una especie que optimiza su crecimiento aprovechando al máximo los nutrientes (BEADLE & SANDS, 2004), diluyendo sus concentraciones siempre que las condiciones ambientales lo permitan. En nuestro ensayo se ha advertido una preferencia de las plantas por acumular nutrientes en la parte aérea respecto de las raíces. Esto último se ha apreciado de forma más acusada en los tratamientos más deficitarios de P y K ($P_{1/20}$ y $K_{1/20}$), donde las concentraciones de P y K en las raíces permanecieron con niveles bajos, a pesar de mantener las hojas con concentraciones dentro de los rangos normales o por encima de ellos. El valor de 0,27 % K obtenido para el tratamiento $K_{1/20}$, está por debajo del nivel mínimo para el cual comienza a ser limitante (KAUL et al., 1980; DALLA-TEA & MARCÓ, 1996), afectando por tanto a la capacidad de producción de raíces nuevas. Aunque se ha llegado a poner en duda la capacidad de este parámetro (regeneración de raíces) para predecir la respuesta posterior en

campo, sin duda es representativo del estado fisiológico general de las plantas, como se ha evidenciado en este estudio.

En trabajos anteriores con esta especie (FERNÁNDEZ et al., 2007) se observó que concentraciones foliares de N en el rango 1,3-1,6% eran suficientes como para no suponer un impedimento en cuanto a la calidad de las plantas producidas y su respuesta en campo, pudiendo incluso enmascarar los efectos de los otros dos nutrientes. Concentraciones por debajo de 1,0 % sí que limitaban la capacidad de crecimiento y de endurecimiento de las plantas. Como en este estudio se han obtenido valores muy por encima del rango citado, pudiera ser que el N ejerciese ese papel predominante sobre los otros dos nutrientes y enmascarase, en cierto modo, las posibles diferencias entre tratamientos inducidas por ellos. En ningún momento se observaron síntomas de toxicidad por exceso de N ni se apreció un menor grado de endurecimiento frente al frío respecto del obtenido por otros autores (FERNÁNDEZ et al., 2004; GALLINO et al. 2006). El efecto positivo que puede tener el N en el caso del endurecimiento de las plantas y su tolerancia al frío pudiera ser debido a que en esta especie se favorezca la acumulación, no tanto de azúcares solubles sino de otros osmolitos (p.ej. aminoácidos), proteínas crioprotectoras, dehidrinas, etc., que ayuden a la bajada del punto de congelación citoplasmático y a la estabilidad de las membranas celulares, respectivamente.

Quizás por ese posible efecto predominante del N, que no diferenció entre tratamientos, y/o por las buenas condiciones climatológicas del año de estudio (2006-07), la respuesta en campo resultó favorable para todos los tratamientos, no diferenciándose entre ellos. Esto nos indica una vez más el alto grado de influencia que ejercen las condiciones ambientales del lugar de plantación.

Agradecimientos

Se agradece al Grupo Empresarial ENCE por su apoyo en el cultivo y suministro de las plantas, así como al Ministerio de Educación y Ciencia por la financiación de este estudio a través del proyecto AGL2006-07886/FOR.

BIBLIOGRAFÍA

- BEADLE, C. & SANDS, P.; 2004. Synthesis of the physiological, environmental, genetic and silvicultural determinants of the growth and productivity of eucalypts in plantations. *Forest Ecol. Manage.* 193: 1-3.
- COLOMBO, S.J.; GLERUM, C. & WEBB, D.P.; 2003. Day length, temperature and fertilisation effects on desiccation resistance, cold hardiness and root growth potential of *Picea mariana* seedlings. *Ann. For. Sci.* 60: 307-317.
- DALLA-TEA, F. & MARCÓ, M.A.; 1996. Fertilisers and eucalypt plantations in Argentina, *In*: P.M. Attiwill & M.A. Adams (eds.), *Nutrition of Eucalypts*: 327-333. CSIRO. Australia.
- FERNÁNDEZ, M.; MARCOS, C.; TAPIAS, R.; RUIZ, F. Y LÓPEZ, G.; 2007. Nursery fertilisation affects the frost-tolerance and plant quality of *Eucalyptus globulus* Labill. cuttings. *Ann. For. Sci.* 64: 865-873.
- FERNÁNDEZ, M.; RUIZ, S.; TAPIAS, R. & SORIA, F.; 2004. Mineral nutrition affects cold hardening development of rooted cuttings *Eucalyptus globulus* Labill. clones. *In*: N.M.G. Borralho, J.S. Pereira, C. Marques, J. Coutinho, M. Madeira & M. Tomé (eds.), *Eucalyptus in a changing world, Proc. IUFRO Conf.*: 509-512. Aveiro.
- GALLINO, J.P.; FERNÁNDEZ, M.; TAPIAS, R.; ALCUÑA, M.M. Y CAÑAS, I.; 2006. Aclimatación al frío en diferentes clones de *Eucalyptus globulus* Labill durante el régimen natural de endurecimiento. *Proceedings of the 2º Simposio Iberoamericano de Eucalyptus globulus*. Vigo University. Pontevedra.
- KAUL, O.N.; GUPTA, A.C. & TANDON, V.N.; 1980. Nutrition studies on *Eucalyptus* IV: Diagnosis of mineral deficiencies in *Eucalyptus globulus* seedlings. *Indian Forester* 94: 453-456.